一些硬蜱的抗热性及其与表皮脂类关系

盖文志　姜在阶
(北京师范大学生物系)

姜在阶(1973)曾对一些硬蜱在不同发育时期和不同生理状态下的抗热性特点及不同种类间的抗热性差异作过研究，提出可用硬蜱的抗热性作为鉴别物种的指标。一般认为，硬蜱的抗热性与保持水分平衡的表皮脂类密切相关。但是，关于蜱类表皮化学的研究，国内尚未见到报道。

本文在一些硬蜱的抗热性实验基础上，对抗热性差异较大的中华革蜱和豪猪血蜱饥饿成虫的表皮脂类进行了分析，从比较生化角度找出表皮脂类的差异，探讨了抗热性与表皮脂类之间、以及与硬蜱生境之间的关系，并证实用硬蜱的抗热性可作为鉴别物种的指标。

材料及方法

抗热性实验材料采用6种硬蜱。血蜱属 *Haemaphysalis* 两种：二棘血蜱 *H. bispinosa* Neumann 采自贵阳市；豪猪血蜱 *H. hystricis* Supino 采自广东河源县山区。革蜱属 *Dermacentor* 两种：森林革蜱 *D. silvarum* Olenev 采自北京门头沟山区。中华革蜱 *D. sinicus* Schulze 采自北京昌平县丘陵。牛蜱属 *Boophilus* 一种：微小牛蜱 *B. microplus* (Canestrini) 采自贵阳市。璃眼蜱属 *Hyalomma* 一种：残缘璃眼蜱 *H. detritum* Schulze 采自新疆阜康县红旗牧场。在实验室中培养出不同发育期(幼虫、若虫、成虫)和不同生理状态(饥饿的、饱食的)硬蜱。

抗热性测定按姜在阶(1973)方法，在超级恒温水浴中进行。实验中共用蜱1831个：其中幼虫1,070个(饥饿的810个，饱食的260个)，若虫520个(饥饿的240个，饱食的280个)，饥饿成虫241个。

表皮脂类的分析中采用豪猪血蜱和中华革蜱的饥饿成虫(两个月龄)。共用蜱241个(豪猪血蜱161个，中华革蜱80个)。尽可能选择个体差异较小的蜱为实验材料。

表皮脂类的抽提是将活蜱浸入氯仿-甲醇(2:1, V/V)中3—5分钟(Gilby et al., 1970; Blomquist et al., 1972; Davis, 1974a)。采用活蜱可以把杀蜱药剂的影响减至最小(Davis, 1974b)。将抽提物在0.74%的氯化钾中进行盐洗(Folch et al., 1957)。在空气中挥发除去溶剂后，贮存于盛五氧化二磷的真空干燥器内干燥，并称重。所得脂类为棕褐色。

层析薄板的制备是将硅胶 GF-254 (E. Merk, A. G.) 铺于 18 × 20cm的玻璃板上，使成0.25mm厚。30分钟后，放在105℃烘箱中活化30分钟，取出后，贮存于盛五氧化

本文于1981年12月收到。
本工作曾得到中国科学院动物研究所昆虫生理室龚和等同志热心帮助，钦俊德、邓国藩两位先生审阅文稿并提出宝贵意见，谨此致谢。

二磷的干燥器内待用（Davis, 1974a）。

分离中性脂类采用己烷/乙醚/乙酸（70:30:1 或 70:30:2，V/V）或己烷/乙酸乙酯（85:15，V/V）（中国医学科学院药物研究所，1978）为溶剂。实验表明，后者分离效果最好。对于磷脂，采用氯仿/甲醇/水（65:25:4，V/V）（Skipski et al., 1969）或氯仿/甲醇硫酸（80:20，V/V）（Mangold et al., 1962）为溶剂。以前者分离效果最好。

在点样箱上，用经过定量的毛细管点样，以保证每次上样量相等。标准物只作定性用，故上样量不严格一致，其中，除蜂蜡外，未经进一步纯化。

由于在薄层层析中，样品的 R_f 值易受很多因素影响而变化，故本实验主要根据与标准品对照和通过特异颜色反应进行定性测定：（1）用 254nm 紫外光检验大部分层析点。（2）用 50% 硫酸喷雾后，在 110℃ 烘箱中烤 30 分钟，所有脂类在白色背景上呈深褐色或黑色斑点，按斑点大小及深浅估计含量。（3）用 5% 的碘乙醇喷雾后，淡黄色背景上呈现褐色斑点，对检出中性脂和磷脂很灵敏，但对蜡酯却不显示颜色反应。（4）用饱和三氯化锑的氯仿溶液喷雾后，于 100—120℃ 烘箱中烘 10 分钟左右，胆固醇及胆固醇酯呈蓝紫色或紫红色，其他成分不显色。或以浓硫酸/乙酸（1:1，V/V）混合，喷雾后，90℃ 下加热 15 分钟，白色背景上产生红色斑点，表明胆固醇或胆固醇酯的存在（Skipski et al., 1969）。（5）用 2% 高锰酸钾喷雾后，凡不饱和成分呈黄色斑点（中国医学科学院药物研究所，1978）。（6）检验磷脂的特异性显色剂按 Lake et al.（1976）的方法配制。喷雾后，白色背景上显示蓝色。（7）用新配制的 0.25% 的水合茚三酮的丙酮 2,6-二甲基吡啶（9:1，V/V）溶液可检出含游离氨基的磷脂（Lake et al., 1976）。（8）用碘化钾的淀粉溶液可检出脂肪酸。

对层析后出现的斑点进行扫描，并求得两种蜱共有的组分的相对比值。薄层扫描时，采用 50% 硫酸显色，扫描仪为 Dual-Wavelength TLC Scanner CS-900，标准光 395nm，参考光 750nm，狭缝最大，灵敏度 5 倍。采用大阪 Tamaya & Co. 制造的积分仪 Compensation Planimeter 进行积分。

结 果

一、六种硬蜱饥饿幼虫抗热性比较 结果见图 1。

此结果表明：主要分布于荒漠和半荒漠地区，适应于低湿环境中生活的残缘璃眼蜱的饥饿幼虫抗热性最高，处理 12 小时，仅有少部分死亡。革蜱属次之：分布于森林或草原的森林革蜱的抗热性低于在农区和草原区生活的中华革蜱。血蜱属种类抗热性又低于革蜱属，主要生活于山地森林地带的豪猪血蜱抗热性稍高。生活于农区，分布较广，生活周期较短，每年发生数代的微小牛蜱抗热性最低，42℃ 高温处理 4 小时，大部分已死亡。六种硬蜱饥饿幼虫的抗热性由高到低顺序如下：残缘璃眼蜱，中华革蜱，森林革蜱，二棘血蜱，豪猪血蜱，微小牛蜱。

二、二棘血蜱不同发育时期不同生理状态下的抗热性比较 结果见图 2、3。

从图 2 与图 3 可以看出，同种硬蜱在相同生理状态下的抗热性以成虫最高，若虫次之，幼虫最低。还可看出幼虫抗热性较高的二棘血蜱，其他发育期（饥饿或饱食状态）抗热性也高；幼虫抗热性较低的豪猪血蜱，其他发育期（饥饿或饱食状态）抗热性也低。由此可

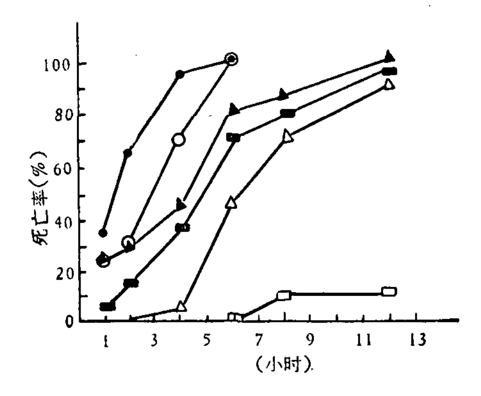


图 1　六种硬蜱饥饿幼虫抗热性的比较（42℃，R.H.75%）

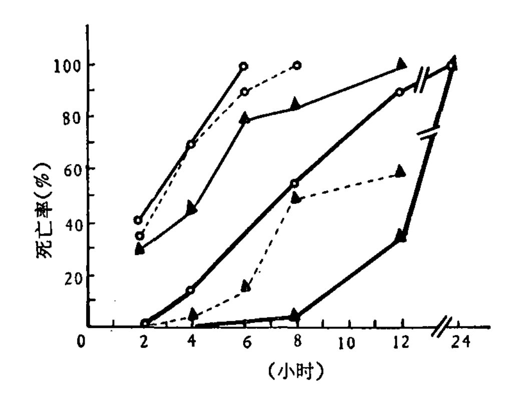


图 2　两种血蜱饥饿幼虫、若虫、成虫的抗热性比较（幼虫：42℃，若虫、成虫：44℃，R.H.75%）

以推论：硬蜱幼虫抗热性高的种类，在其他发育期抗热性也高。

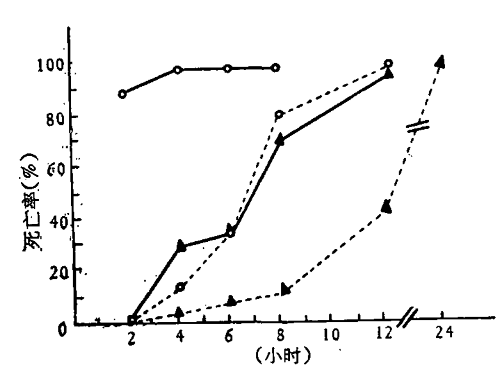


图 3　两种血蜱饱食幼虫、若虫在 44℃，R. H. 75% 下的抗热性比较

三、中华革蜱和豪猪血蜱饥饿成虫表皮脂类总含量　结果见表 1。

从表 1 中可看出抗热性高的中华革蜱表皮脂类总含量高于抗热性低的豪猪血蜱。

四、两种蜱表皮脂类薄层层析结果：见图版 I:1，2。

根据特异颜色反应并参照标准物的斑点位置，在两种蜱的表皮脂类中检出烃(或蜡)、甘油酯、胆固醇、胆固醇酯及磷脂；游离脂肪酸和醇也少量存在。两种表皮脂类中均检出不饱和组分的存在，尤其在甘油三酯位置，当以 2% 高锰酸钾喷雾后，黄色斑点很明显，豪猪血蜱该点显色较中华革蜱快，且颜色深，说明其甘油三酯中不饱和程度高。对 0.25% 的水合茚三酮显示阴性反应，表明两种蜱表皮中不含具有游离氨基的磷脂酰丝氨酸和磷脂酰乙醇胺，或含量少于 1μg。

比较图版 I:1 中两种硬蜱表皮脂类层析后的斑点面积及颜色深浅：(1)中华革蜱表皮脂类中，甘油酯、胆固醇、胆固醇酯为占优势的组分；豪猪血蜱中则是烃(或蜡)、胆固醇酯、胆固醇占优势。(2)显然，中华革蜱表皮脂类中，甘油酯含量远远超过豪猪血蜱的甘油酯含量；而胆固醇则正相反，豪猪血蜱的含量多于中华革蜱的含量。(3)层析图谱中，豪猪

表 1　两种硬蜱饥饿成虫表皮脂类总含量比较

种　类	蜱 个 数	总脂量 (μg)	脂类 (μg)/每蜱	含脂量(μg)/鲜重(mg)
中华革蜱	80	2,850	36.63	8.26
豪猪血蜱	161	2,080	12.92	5.32

血蜱胆固醇酯斑点位置的上半部分的成分(由于极性与胆固醇酯极性接近而不能完全分开),在中华革蜱是缺乏的。该部分用三氯化锑的氯仿饱和溶液喷雾后,并不显示胆固醇酯的特异颜色反应,对5% 碘乙醇也无颜色反应。这表明,两种蜱在该部分的脂可能存在质的差异(估计为烃基蜡)。此外,两种蜱表皮脂类中的胆固醇和磷脂含量也可能略有差异。

对图版 I: 1 进行薄层扫描后的斑点面积比所显示的趋势与上述结果一致(见表 2)。

表 2 两种硬蜱饥饿成虫表皮脂类层析图谱扫描结果

	扫描后各斑点所占面积				
	磷脂	胆固醇	甘油三酯	胆固醇酯+蜡	磷脂中极性更大部分
豪猪血蜱	1.20	2.40	2.01	6.60	2.65
中华革蜱	1.00	2.00	6.50	3.00	5.10
面积比 豪猪血蜱/中华革蜱	1.20:1	1.20:1	0.31:1	2.20:1	0.52:1
溶剂系统	己烷/乙酸乙酯 (85:15, V/V)				氯仿/甲醇/水 (65:25:4 V/V)

改换极性较大的溶剂氯仿/甲醇/水 (65:25:4, V/V) 时,磷脂中大多数组分离开原点,两种蜱的差异不甚明显(可能是含量太少)。但是,在原点附近位置上,有一部分磷脂产生"圆椎状"拖尾斑点,不必喷显色剂即可看到黄褐色(估计为糖脂或聚合物,在表 2 中称作磷脂中极性更大部分,见图版 I:2)。显色后的颜色及斑点面积表明,中华革蜱的含量多于豪猪血蜱。扫描结果见表 2。

从上述层析结果可以看出,抗热性表现出明显差异的中华革蜱和豪猪血蜱,其表皮脂类的组成在数量、类型和各组分的相对比例等方面也明显存在差异。

实验中,薄层层析及扫描分别进行 3 次以上,每次实验均显示相似趋势,这反映了实验的可重复性及结果的可靠性。

讨 论

在生物学温度范围内,硬蜱的抗热性反映了它们在高温下保持水分平衡的能力。由于蜱的表皮中具有蜡类脂层,主要分布于上表皮内,作为失水的屏障,在维持体内水分平衡方面起重要作用。因此,硬蜱的抗热性与保持水分平衡的表皮脂类密切相关。

在我们的实验中,抗热性较高的中华革蜱表皮脂类总含量(包括可为氯仿抽提的游离脂和可为甲醇抽提的结合脂),明显地高于抗热性较低的豪猪血蜱(见表 1)。由于脂类分子中靠近脂肪酸一端的烃链是非极性的,这使脂类具有明显的疏水性。表皮中脂类含量越高,表皮的拒水作用就越强。因此,考虑到表皮脂类对于防止水分蒸发方面的特殊作用,这种表皮脂类含量上的差异是可以理解的。

表皮脂类的薄层层析结果表明,蜱的表皮脂类组成基本上与昆虫表皮脂的组成相似,主要含烃(蜡)、胆固醇及胆固醇酯、甘油酯及少量游离脂肪酸、醇和磷脂等。其中某些组分含有不饱和成分。蜱的表皮脂类中,缺乏上述成分中的一种或几种,或者含量不同。图

版 I:1，2 及表 2 所示结果表明：抗热性差异较大的中华革蜱和豪猪血蜱表皮脂类的组成在数量、类型及各组分的相对比例上存在明显差异。Hadley (1981) 曾指出："沉淀到表皮表面上的脂类的物理结构和排列，取决于这些脂类的量和化学组成。不同的脂类成分，对于减少表皮蒸发的效果不同。具有最大不透水效率的是长链饱和、含几个甲基支链的非极性分子"。Beament (1955, 1964) 等也曾指出，昆虫和蜱的"临界温度"非常接近于可抽提的脂的熔点范围。表皮脂类的化学成分的熔点范围表明成分中烃链长度的相对变化，烃链长度越大，"临界温度"越高。一般认为，脂单层的稳定性取决于邻近链间的范德华力以及底层物质(指壳脂蛋白)与脂类的极性集团之间的结合力。转变发生时，首先必须破坏烃链中大量较弱的范德华力，烃链越长，链间结合力越大，破坏它所需要的温度也就越高。另一方面，脂肪酸烃链具有疏水性，烃链越长，其分子疏水性越强，表皮的渗透性越低。已证明：烃链的饱和程度越高，分支越少，相变温度也越高，与此相关的表皮渗透性越低。Hadley et al. (1977) 解释为，烃链的分支使烃分子不能紧密地挤在一起而使水更易透过。

胆固醇和胆固醇酯作为昆虫和蜱表皮脂类的成分之一，对临界温度时发生的相变也有重要作用，它们具有液晶性质，是一种具有显著温度效应的液晶材料 (Small, 1970)。

磷脂在表皮脂类中含量较少，但它的作用与胆固醇的作用有许多相似之处，其饱和程度与整个机体的抗热性直接有关 (Fraenkel et al., 1940)。

可见，表皮脂类的各种成分对于相变温度和表皮的渗透能力，进而对抗热性可产生不同的影响。需要指出的是，这里我们所涉及的只是表皮脂类中各组分单独发挥的作用。事实上，表皮所表现出的渗透性和临界温度乃是这些不同组分共同作用的一种综合效应。而且，很可能这种作用又与表皮中其他成分相关连。

硬蜱的抗热性与其所处环境条件的关系十分密切。表皮的性质与蜱的生境及行为有关，各种昆虫可因生态条件不同而有不同的表皮脂类成分和组合。在生物学温度范围内，干燥的生境与低的蒸发率之间有一普遍关系 (Hackman, 1970)。硬蜱在大部分生活周期里，暴露于它们所处的微气候条件中，并需适应。故各种硬蜱生长的微气候条件的类型相当重要。以表皮脂类明显不同的中华革蜱和豪猪血蜱为例，前者采自华北丘陵地带，属古北区种类，这里气候夏热冬寒，风沙较大，气候干旱，土壤干燥。在此种生境中生活的中华革蜱则较耐干燥，其抗热性也高。后者采自华南山区，为东洋区种类，那里潮湿多雨，尽管外界气温较高，但由于豪猪血蜱寄主为昼伏夜出的豪猪、野猪等动物，其小生境湿度很大，但气温较外界低，尤其山区更是如此。生活于此生境中的豪猪血蜱不耐干燥，抗热性也低。对上述不同生境和地理分布的长期适应的结果，可能是造成不同种属硬蜱表皮脂类的组成及性质上的差异，进而表现在抗热性方面显著不同的原因之一。当然，对于同种内不同发育时期和不同生理状态下的硬蜱抗性差异，用上述解释是不合适的。较合理的解释是：一方面由于蜱在发育过程中，几丁质外皮逐渐变得厚而坚固，这有助于防止水分的丧失 (姜在阶, 1962)，另一方面是由于随着发育时期不同，表皮脂类的完善程度和构成成分改变，使蜱类控制失水的能力逐渐增强。

与渗透性有关的表皮成分、性质及所牵连的生物学功能方面的研究相当复杂。对其所涉及的一系列理论问题，目前仍不十分清楚。迄今提出的许多解释尚缺乏足够的证据，

有些则仍属推测并处于争论之中。不过,可以肯定的是: 对于不同种属及同种内不同发育时期和生理状态下的硬蜱，表皮脂类的组成在数量、类型和各组分相对比例上的差异，导致它们在表皮中的不同排列方式及与表皮中其他成分的相互作用，它直接影响蜱的临界温度,并反映在蒸发率的不同上。即: 表皮脂类的上述差异引起硬蜱表皮对失水的限制能力不同,这也正是造成抗热性差异的重要原因。

参 考 文 献

姜在阶 1962 革蜱 (*Dermacentor*) 的一些生物学特性的分析。北京师范大学学报 (自然科学版), (**1**): 87—100。

姜在阶 1973 一些硬蜱的抗热性观察。动物学报**19**(**4**): 313—22。

中国医学科学院药物研究所 1978 薄层层离及其在中草药分析中的应用。50 页。科学出版社。

Beament, J. W. L. 1955 Wax secretion in the cockroach. *J. Exptl. Biol.*, **32**: 514—38.

Beament, J. W. L. 1964 The active transport and passive movement of water in insects. *Adv. Insect Physiol.*, **2**: 67—125.

Blomquist, G. J., C. L. Soliday, B. A. Byers, J. W. Brakke and L. L. Jackson 1972 Cuticular lipids of insects: V. Cuticular wax esters of secondary alcohols from the grasshoppers *Melanoplus packardii* and *Melanoplus sanguinipes*. *Lipids*, **7**: 356—62.

Davis, M. T. B. 1974a Critical temperature and changes in cuticular lipids in the rabbit tick, *Haemaphysalis leporispalustris*. *J. Insect Physiol.*, **20**: 1087—100.

Davis, M. T. B. 1974b Changes in critical temperature during nymphal and adult development in the rabbit tick, *Haemaphysalis leporispalustris*. *J. Exptl. Biol.*, **60**: 85—94.

Folch, J., M. Lees and S. G. H. Sloane 1957 A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biochem.*, **226**: 497—509.

Fraenkel, G. and H. S. Hopf 1940 The physiological action of abnormally high temperatures on poikilothermic animal. I. Temperature adaptation and the degree of saturation of the phosphatides. *Biochem. J.*, **34**: 1085—92.

Gilby, A. R. and J. W. McKellar 1970 The composition of empty puparia of a blowfly. *J. Insect Physiol.*, **16**: 1517—29.

Hackman, R. H. 1970 The integument of arthropods. Chem. Zool. VI, Part B., Academic Pross, New York.

Hadley, N. F. 1981 Cuticular lipids of terrestrial plants and arthropods: A comparison of their structure, composition, and waterproofing function. *Biol. Rev.*, **56**: 23—49.

Hadley, N. F. and L. L. Jackson 1977 Chemical composition of the epicuticular lipids of the scorpion *Peruroctonus mesaensis*. *Insect Biochem.*, **7**: 85—9.

Lake, B. D. and H. J. Goodwin 1976 Chromatographic and Electrophoretic Techniques VI. 345—366. William Heinmann Medical Books Ltd.

Mangold, H. K. and R. Kammereck 1962 New methods of analyzing industrial alphatic lipids. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **39**: 201—6.

Skipski, V. P. and M. Barclay 1969 Thin-layer chromatography of lipids. Methods in Enzymology V. 14, 530—98.

Small, D. M. 1970 The physical state of lipids of biological importance: cholesteryl esters, cholesterol, triglycerids. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **7**: 55—83.

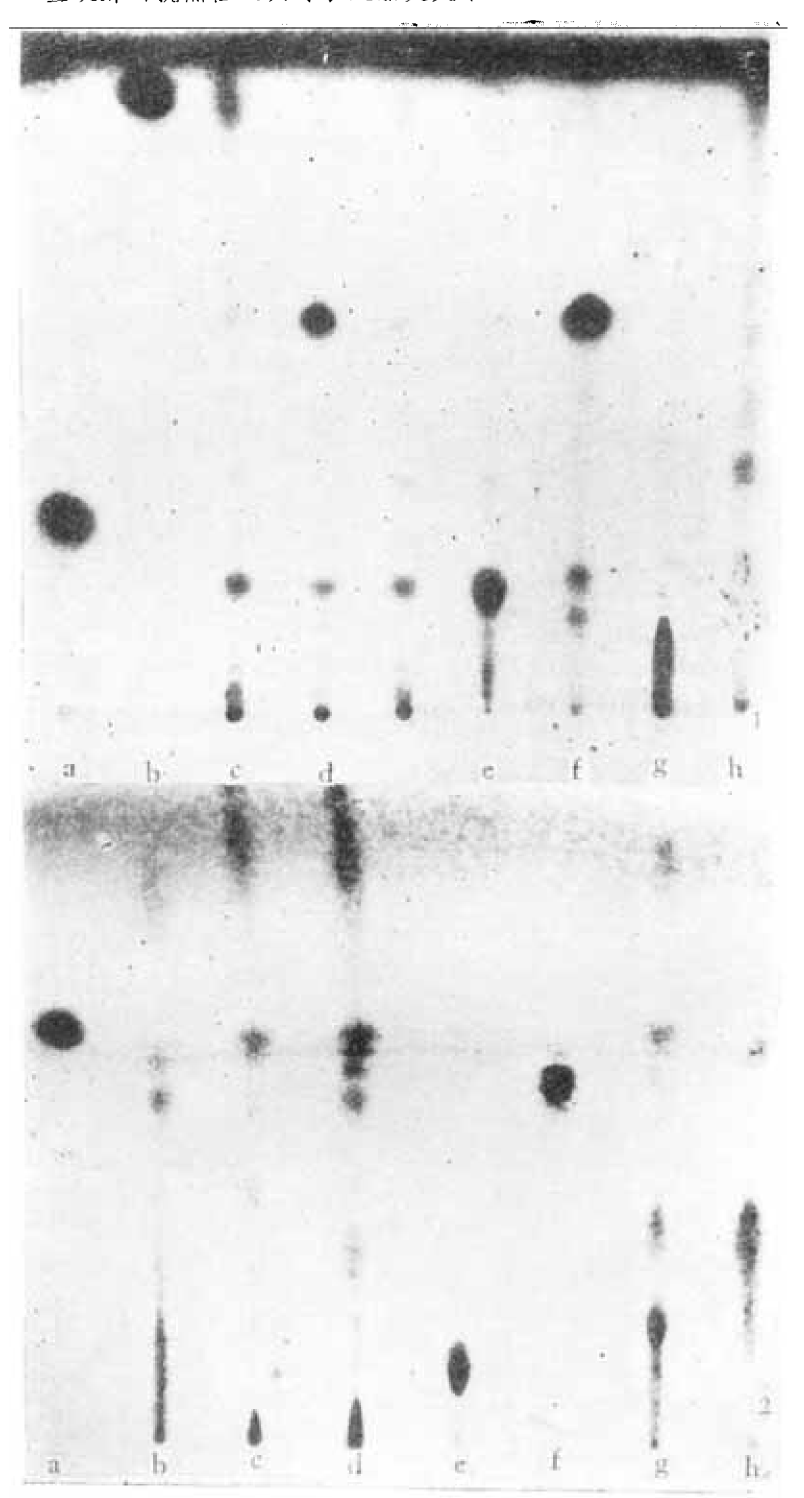
THERMOTOLERANCE OF IXODID TICKS AND ITS RELATION TO CUTICULAR LIPIDS

GAI WEN-ZHI　JIANG ZAI-JIE

(*Department of Biology, Beijing Normal University*)

The thermotolerance of six species of unfed larvae of ixodid ticks was investigated. The order of their thermotolerance is as follows: *Hyalomma detritum* Schulze, *Dermacentor sinicus* Schulze, *D. silvarum* Olenev, *Haemaphysalis bispinosa* Neumann, *H. hystricis* Supino, *Boophilus microplus* (Canestrini).

The cuticular lipids of unfed adults of *D. sinicus* and *H. hystricis* were analyzed with thin-layer chromatography. The results show that *D. sinicus* has a higher lipids content than *H. hystricis* which has lower thermotolerance. Comparisons of the results of chromatography of the cuticular lipids between those ticks show that glyceride cholesterol and cholesterol ester are predominant in *H. hystricis*. *D. sinicus* has higher glyceride content than *H. hystricis*. Wax is wanting in *D. sinicus*. The contents of cholesterol and phosphatide are also different in the above ticks. Our analysis suggests that the qualitative and quantitative compositions of cuticular lipids are different in different species and they change with development stages and physiological states. The probable relationship between thermotolerance and cuticular lipids and between thermotolerance and habitats of the ixodid ticks are discussed.



1. 两种蜱中性表皮脂类的薄层层析。溶剂系统：己烷/乙酸乙酯（85:15，V/V）
   a. 十六醇＋石蜡 b. 硬脂酸胆固醇酯 c. 豪猪血蜱 d. 中华革蜱 e. 胆固醇 f. 棕榈油 g. 亚油酸 h. 蜂蜡
2. 两种蜱极性表皮脂类的薄层层析。溶剂系统：氯仿/甲醇/水（65:25:4，V/V）
   a. 十六醇 b. 脑磷脂 c. 豪猪血蜱 d. 中华革蜱 e. 鞘磷脂 f. 脑苷脂 g. 卵磷脂 h. 鞘氨醇